



(51) Internationale Patentklassifikation 7 : A61K 9/107, 31/197, 41/00, A61P 35/00, 17/06		A1	(11) Internationale Veröffentlichungsnummer: WO 00/28971 (43) Internationales Veröffentlichungsdatum: 25. Mai 2000 (25.05.00)
<p>(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP99/08711</p> <p>(22) Internationales Anmeldedatum: 12. November 1999 (12.11.99)</p> <p>(30) Prioritätsdaten: 198 52 245.2 12. November 1998 (12.11.98) DE</p> <p>(71) Anmelder (<i>für alle Bestimmungsstaaten ausser US</i>): ASAT AG APPLIED SCIENCE & TECHNOLOGY [CH/CH]; Baarerstrasse 77, CH-6302 Zug (CH).</p> <p>(72) Erfinder; und</p> <p>(75) Erfinder/Anmelder (<i>nur für US</i>): SCHMID, Hans, W. [CH/CH]; Riedmatt 5, Postfach 3542, CH-6303 Zug (CH). BURMEISTER, Gerd [CH/CH]; Neumattstrasse 87, D-4455 Zunzen (CH).</p> <p>(74) Anwälte: WEICKMANN, H. usw.; Kopernikusstrasse 9, D-81679 München (DE).</p>		<p>(81) Bestimmungsstaaten: AE, AL, AM, AT, AU, AZ; BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW, ARIPO Patent (GH, GM, KE, LS, MW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).</p> <p>Veröffentlicht <i>Mit internationalem Recherchenbericht. Vor Ablauf der für Änderungen der Ansprüche zugelassenen Frist; Veröffentlichung wird wiederholt falls Änderungen eintreffen.</i></p>	
<p>(54) Title: NANO-EMULSION OF 5-AMINOLEVULINIC ACID</p> <p>(54) Bezeichnung: 5-AMINOLÄVULINSÄURE-NANOEMULSION</p> <p>(57) Abstract</p> <p>The present invention relates to a composition comprising a nano-emulsion that contains 5-aminolevulinic acid as well as a carrier in an aqueous phase. This invention also relates to a pharmaceutical preparation containing this composition. The nano-emulsions of this type can be used in photodynamic therapy as well as in the photodiagnostic detection of proliferative cells.</p> <p>(57) Zusammenfassung</p> <p>Die Erfindung betrifft eine Zusammensetzung, welche eine Nanoemulsion, umfassend 5-Aminolävulinsäure und einen Träger in einer wässrigen Phase, umfasst und ein die Zusammensetzung enthaltendes pharmazeutisches Präparat. Derartige Nanoemulsionen finden Verwendung bei der photodynamischen Therapie und zum photodiagnostischen Nachweis von proliferierenden Zellen.</p>			

LEDIGLICH ZUR INFORMATION

Codes zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

AL	Albanien	ES	Spanien	LS	Lesotho	SI	Slowenien
AM	Armenien	FI	Finnland	LT	Litauen	SK	Slowakei
AT	Österreich	FR	Frankreich	LU	Luxemburg	SN	Senegal
AU	Australien	GA	Gebun	LV	Lettland	SZ	Swasiland
AZ	Aserbaidschan	GB	Vereinigtes Königreich	MC	Monaco	TD	Tschad
BA	Bosnien-Herzegowina	GE	Georgien	MD	Republik Moldau	TG	Togo
BB	Barbados	GH	Ghana	MG	Madagaskar	TJ	Tadschikistan
BE	Belgien	GN	Guinea	MK	Die ehemalige jugoslawische Republik Mazedonien	TM	Turkmenistan
BF	Burkina Faso	GR	Griechenland	ML	Mali	TR	Türkei
BG	Bulgarien	HU	Ungarn	MN	Mongolei	TT	Trinidad und Tobago
BJ	Benin	IE	Irland	MR	Mauretanien	UA	Ukraine
BR	Brasilien	IL	Israel	MW	Malawi	UG	Uganda
BY	Belarus	IS	Island	MX	Mexiko	US	Vereinigte Staaten von Amerika
CA	Kanada	IT	Italien	NB	Niger	UZ	Usbekistan
CF	Zentralafrikanische Republik	JP	Japan	NL	Niederlande	VN	Vietnam
CG	Kongo	KE	Kenia	NO	Norwegen	YU	Jugoslawien
CH	Schweiz	KG	Kirgisistan	NZ	Neuseeland	ZW	Zimbabwe
CI	Côte d'Ivoire	KP	Demokratische Volksrepublik Korea	PL	Polen		
CM	Kamerun	KR	Republik Korea	PT	Portugal		
CN	China	KZ	Kasachstan	RO	Rumänien		
CU	Kuba	LC	St. Lucia	RU	Russische Föderation		
CZ	Tschechische Republik	LJ	Liechtenstein	SD	Sudan		
DE	Deutschland	LK	Sri Lanka	SE	Schweden		
DK	Dänemark	LR	Liberia	SG	Singapur		
EE	Estland						

5-Aminolävulinsäure-Nanoemulsion**Beschreibung**

5

Die vorliegende Erfindung betrifft Nanoemulsionen, welche 5-Aminolävulinsäure, Derivate, Vorstufen oder Metaboliten davon enthalten.

10

Die photodynamische Therapie ist eine neue und vielversprechende Methode zur Behandlung von verschiedenen prämaligen und malignen Erkrankungen, die mit der Zellproliferation in Zusammenhang stehen. Das Prinzip der photodynamischen Therapie beruht darauf, einen sog. Photosensibilisator in das Tumorgewebe einzubringen und diesen durch Bestrahlung mit Licht geeigneter Wellenlänge in einem cytotoxisch aktiven Wirkstoff umzuwandeln, welcher letztlich die Zerstörung der Zellen bewirkt. Die Selektivität dieser Methode beruht in einer stärkeren Anreicherung des Sensibilisators in schnell proliferierenden Tumorzellen im Vergleich zum Normalgewebe. Durch eine lokal begrenzte Lichtbestrahlung kann der in den Tumorzellen enthaltene Sensibilisator gezielt aktiviert werden, wodurch die Krebszellen unter weitgehender Schonung des gesunden Gewebes zerstört werden.

15

20

25

30

Bisher wurde als Photosensibilisator zumeist ein intravenös verabreichbares Gemisch von Haematoporphyrinderivaten verwendet. Trotz ermutigender klinischer Erfolge bei unterschiedlichen Krebsarten weisen diese Haematoporphyrinderivate jedoch verschiedene Nachteile auf. Erstens treten infolge der geringen Tumorselektivität und der nur langsamen Elimination aus dem Körper relativ hohe Wirkstoffkonzentrationen im Normalgewebe auf. Demzufolge finden bei der Bestrahlung unerwünschte photochemische Reaktionen im gesunden Gewebe statt. Zweitens resultiert diese Behandlung in einer allgemeinen Lichtempfindlichkeit, so daß sich der Patient während etwa vier Wochen nicht dem Tageslicht aussetzen darf.

- 2 -

Eine Verringerung der hohen Wirkstoffkonzentration im Normalgewebe und somit der unerwünschten Nebenwirkungen kann in bestimmten Fällen, insbesondere bei dermatologischen und gynäkologischen Anwendungen durch die Entwicklung topisch applizierbarer Wirkstoffformulierungen anstelle der bekannten systemischen Formulierungen erreicht werden. Zur Verringerung der Lichtempfindlichkeit wird weiterhin versucht, Precursoren von Photosensibilisatoren einzusetzen, die photochemisch inaktiv sind und erst innerhalb der Zielzelle in einen Photosensibilisator umgewandelt werden.

10 5-Aminolävulinsäure ist eine körpereigene Substanz, die aus Glycin und Succinyl-CoA synthetisiert wird. Im Rahmen der Haem-Biosynthese entsteht aus 5-Aminolävulinsäure (5-ALA) in mehreren schnell verlaufenden Reaktionsschritten das hochgradig photoaktive Protoporphyrin IX, das anschließend in einer langsamen Reaktion zur Haem umgewandelt wird. Ein natürlicher Regelmechanismus hemmt bei zu hoher Haemkonzentration sowohl die körpereigene Synthese von 5-Aminolävulinsäure als auch den Abbau von Protoporphyrin IX.

20 Durch die exogene Verabreichung von synthetisch hergestellter 5-Aminolävulinsäure wird dieser Regelmechanismus umgangen, was zu einer erhöhten Produktion von Protoporphyrin IX führt. Da dessen Abbau durch den natürlichen Kontrollmechanismus weiterhin gehemmt ist, reichert sich das Protoporphyrin IX in den Zellen an. Protoporphyrin IX kann bei Bestrahlung mit Licht eine photochemische Oxidationsreaktion eingehen und wirkt somit als Photosensibilisator. Bei Absorption eines Lichtquants durch das Sensibilisatormolekül wird dieses zunächst in einen elektronisch angeregten Zustand (Singulettzustand) versetzt, welcher relativ kurzlebig ist und seine Überschußenergie entweder innerhalb einiger Nanosekunden durch Emission eines Fluoreszenzphotons wieder abgibt oder in einen relativ langlebigen Tripletzustand übergeht. Aus diesem Tripletzustand kann Energie auf in der Zelle vorhandene Sauerstoffmoleküle übertragen werden.

25 30

- 3 -

Der dabei entstehende Singulett-Sauerstoff wirkt cytotoxisch, insbesondere auf proliferierende Zellen, da er mit Zellkomponenten, z.B. der Zellmembran und Mitochondrien, reagiert oder die Bildung von zellschädigenden Radikalen auslöst. Weiterhin führt die Bestrahlung des Photosensibilisators zu einer charakteristischen Fluoreszenzstrahlung, welche für Nachweisreaktionen, beispielsweise zum Nachweis proliferierender Zellen verwendet werden kann.

Aus dem Stand der Technik sind eine Reihe von Untersuchungen unter Verwendung topisch applizierbarer 5-Aminolävulinsäure-Zusammensetzungen bekannt. Diesen Untersuchungen ist gemeinsam, daß die eingesetzte 5-Aminolävulinsäure in Form einer Öl-in-Wasser-Emulsion vorliegt, Unterschiede bestehen jedoch hinsichtlich weiterer Parameter, wie Penetrationsdauer, Behandlungsdauer, Art des verwendeten Lichts und aufgebrachte Lichtdosis.

B. Thiele et al. (H+G, Band 69, Heft 3, Seiten 161-164 (1994)) beschreiben Untersuchungen unter Verwendung von 20% δ -Aminolävulinsäure in Form einer Öl-in-Wasser-Emulsion bei einer Penetrationsdauer von 5 bis 6 h und anschließender Bestrahlung mittels eines Argonionen-gepumpten Farbstofflasers (Emissionsmaximum 630 nm) mit einer kumulativen Gesamtdosis von 50 bis 100 J/cm².

Wolf et al. (Journal of the American Academy of Dermatology Vol. 28, Seiten 17 bis 21, 1993) beschreiben Untersuchungen unter Verwendung von 20% 5-Aminolävulinsäure in Form einer Öl-in-Wasser-Emulsion mit einer Penetrationsdauer von 4, 6 oder 8 h und Bestrahlung mittels unfiltriertem Licht oder Rotlicht mit einer Lichtdosis von 30 J/cm² bis zu 100 J/cm².

Obwohl die aus dem Stand der Technik bekannten Untersuchungen das vielversprechende Potential der photodynamischen Therapie unter

- 4 -

Verwendung von 5-Aminolävulinsäure klar aufzeigen, sind bisher bekannte Öl-in-Wasser-Emulsionen mit einer Reihe von Nachteilen behaftet.

So wurde von M. Novo Rodriguez et al. (SPIE, Vol. 2371, Seiten 204-209) gezeigt, daß Aminolävulinsäure in den für eine klinische Anwendung erforderlichen hohen Konzentrationen im neutralen bis basischen pH-Bereich in wässrigen Lösungen instabil ist. Lediglich bei einem pH-Wert von 5,01 werden im untersuchten Zeitraum von 25 h zufriedenstellende Ergebnisse erhalten, und als optimale Bedingungen für wässrige 5-Aminolävulinsäurelösungen wird eine Konzentration von 3% und ein pH-Wert von 5 angegeben. Für eine klinische Anwendung wird es jedoch im allgemeinen erforderlich sein, auch Zusammensetzungen in einem höheren Konzentrationsbereich zur Verfügung zu stellen, darüber hinaus ist für eine kommerzielle Anwendung eine Stabilität der 5-ALA-Lösungen in einer Größenordnung von Wochen oder Monaten erforderlich.

V. von Arx et al. (J. Pharm. Pharmacol. 49: 652-656, 1997) beschreiben Untersuchungen zur topischen Applikation von 5-Aminolävulinsäure in verschiedenen Gelen. Als beste Formulierung zur Aufrechterhaltung der Stabilität von 5-Aminolävulinsäure wird eine Kombination mit Novion AA-1, einer Polyacrylsäure, bei einem pH < 6 angegeben.

Ein weiterer Nachteil der bekannten Öl-in-Wasser-Emulsionen besteht darin, daß die Eindringtiefe des Photosensibilisators in das geschädigte Gewebe nicht optimal ist. Dadurch ist in vielen Fällen das erkrankte Gewebe nur in seinen oberflächlichen Schichten der photodynamischen Therapie zugänglich, obwohl die Eindringtiefe des zur Aktivierung des Photosensibilisators verwendeten Lichts auch eine Behandlung tiefer liegender Schichten ermöglichen würde.

Aufgabe der vorliegenden Erfindung war es somit, 5-Aminolävulinsäure enthaltende Zusammensetzungen bereitzustellen, bei denen die aus dem

- 5 -

Stand der Technik bekannten Nachteile zumindest teilweise beseitigt sind und die insbesondere eine ausreichende Stabilität besitzen und eine verbesserte Eindringtiefe in Gewebe zeigen.

5 Gelöst wird diese Aufgabe durch eine Zusammensetzung, welche dadurch gekennzeichnet ist, daß sie eine Nanoemulsion, umfassend eine Substanz ausgewählt aus 5-Aminolävulinsäure, einem Derivat, einer Vorstufe oder/und einem Metaboliten davon, und einen Träger in einer wässrigen Phase enthält.

10 Überraschenderweise wurde festgestellt, daß die Stabilität von 5-Aminolävulinsäure bei Formulierung in eine Nanoemulsion erheblich gesteigert werden kann. Die Ursachen hierfür sind nicht bekannt, es scheint jedoch, daß ein vom Nanosomen geschaffenes Microenvironment sich 15 besonders günstig auf die Stabilität der 5-Aminolävulinsäure auswirkt.

Weiterhin hat sich überraschend gezeigt, daß mit den erfindungsgemäßen 20 Nanoemulsionen sehr hohe Gewebeeindringtiefen erreicht werden können, wordurch auch tiefer liegende Erkrankungen bzw. Erkrankungen mit höheren Schichtdicken der Behandlung zugänglich werden. Die größeren Eindringtiefen waren insbesondere deswegen überraschend, weil bisher 25 davon ausgegangen worden war, daß 5-Aminolävulinsäure aufgrund ihrer geringen Größe ohnehin leicht durch eine geschädigte Epidermis, die beispielsweise über Entzündungen, Präkanzerosen und Tumoren vorliegt, eindringen kann.

Ein dritter überraschender Vorteil liegt darin, daß die erfindungsgemäß in 30 Nanosomen verpackte 5-Aminolävulinsäure offenbar sehr gut von den Zellen aufgenommen wird. Dadurch wird einerseits ein verbessertes Targeting erreicht, und andererseits kann die Penetrationsdauer, d.h. der Zeitraum zwischen dem Aufbringen der Zusammensetzung und der Lichtbestrahlung

- 6 -

des erkrankten Gewebes reduziert werden, was für den Patienten eine spürbare Erleichterung darstellt.

Erfindungsgemäß umfaßt die Nanoemulsion eine Wirksubstanz ausgewählt
5 aus 5-Aminolävulinsäure, einem Derivat, einer Vorstufe oder/und einem Metaboliten davon. Unter "Derivat" sind insbesondere Salze, Komplexe und Additionsverbindungen zu verstehen. Unter "Vorstufe" und "Metabolit" sind dabei solche Substanzen zu verstehen, die in einer Zelle zu Protoporphyrin
10 IX umgesetzt werden. Besonders bevorzugt ist die Wirksubstanz 5-Aminolävulinsäure oder ein Derivat davon. Der Träger kann ein beliebiger Träger sein, solange er zur Ausbildung der Nanoemulsion in einer wässrigen Phase fähig ist. Vorzugsweise umfaßt der Träger eine Ölphase, d.h. ein nicht mit Wasser mischbares Material, z.B. Lipide, sowie einen Emulgator.
15 Zweckmäßigerverweise werden physiologisch unbedenkliche Trägersubstanzen eingesetzt.

Die Größe der emulgierten Teilchen in der Nanoemulsion (Nanosomen) beträgt im Mittel \leq 200 nm, z.B. 10 bis 200 nm. Die jeweils optimale Teilchengröße hängt von weiteren Parametern, wie beispielweise der
20 Viskosität der Zusammensetzung ab. Beispielsweise wurden mit einem Gel mit einer Viskosität von 5 mPas bei einem mittleren Teilchendurchmesser von etwa 110 nm gute Ergebnisse erhalten und ebenfalls für eine Lotion mit einer Viskosität von 1,6 mPas bei einem mittleren Teilchendurchmesser von etwa 20 nm.

25 Geeignete Trägersysteme, welche über einen langen Zeitraum stabil sind, keine hohen Konzentrationen von Tensiden und Cotensiden enthalten und frei von toxischen Emulgatorkomplexen sind, werden z.B. im US-Patent 5,152,923 offenbart. Diese Nanoemulsionen umfassen als Emulgator ein
30 Glycerophosphatid wie beispielweise ein Lecithin oder ein Cephalin und als Ölphase physiologisch verträgliche Lipide, z.B. Triglyceride, wie etwa

- 7 -

pflanzliche oder tierische Öle, z.B. Erdnußöl, Sojabohnenöl etc. Das Gewichtsverhältnis von Emulgator/Öl beträgt von 0,05 bis 0,4:1.

Emulgatoren, welche in der Praxis bereits in 5-Aminolävulinsäure-
5 Nanoemulsionen erfolgreich eingesetzt worden sind, sind beispielsweise Eilecithin, Sojalecithin und Phosphatidylcholin. Ein bewährtes Lipid ist beispielsweise Miglyol 812.

Der Anteil der Wirksubstanz, z.B. 5-Aminolävulinsäure in der
10 Zusammensetzung hängt im wesentlichen von dem vorgesehenen Anwendungszweck ab. Im allgemeinen sind etwa 1 bis 25 Gew.-%, bezogen auf das Gesamtgewicht der Zusammensetzung, vorhanden. Höhere bzw. niedrigere Dosierungen sind jedoch machbar. Für Anwendungen im Zusammenhang mit photodynamischer Therapie hat sich ein Anteil von 5 bis
15 Gew.-%, insbesondere von etwa 10 Gew.-% als geeignet erwiesen.

Die Zusammensetzung kann weiterhin Hilfs- oder/und Zusatzstoffe umfassen und insbesondere solche Stoffe, welche in der Kosmetik oder Pharmazie üblich sind. Beispiele für derartige Substanzen sind etwa Puffer,
20 Stabilisatoren, zusätzliche Emulgatoren, Verdickungsmittel, etc.

In einer besonders bevorzugten Ausführungsform ist die erfindungsgemäße Zusammensetzung ein Gel, welches, bezogen auf das Gesamtgewicht der Zusammensetzung 1 bis 25 Gew.-%, bevorzugt 5 bis 15 Gew.-% Wirksubstanz, 40 bis 60 Gew.-%, bevorzugt 45 bis 55 Gew.-% Träger, 0 bis 10 Gew.-%, bevorzugt 1 bis 5 Gew.-% Hilfsstoffe und den Rest Wasser umfaßt.

Gemäß einer weiteren besonders bevorzugten Ausführungsform ist die erfindungsgemäße Zusammensetzung eine Lotion, welche, bezogen auf das Gesamtgewicht der Zusammensetzung, 1 bis 25 Gew.-%, bevorzugt 5 bis 15 Gew.-% Wirksubstanz, 10 bis 30 Gew.-%, bevorzugt 15 bis 25 Gew.-%

- 8 -

Träger, 10 bis 30 Gew.-%, bevorzugt 15 bis 25 Gew.-% Hilfsstoffe und den Rest Wasser umfaßt.

Wie eingangs erwähnt, zeigt die erfindungsgemäße 5-Aminolävulinsäure-
5 Zusammensetzung eine überraschend hohe Lagerstabilität, wobei der Anteil an Wirksubstanz in einer Zusammensetzung, die einen pH-Wert zwischen 1,5 und 3 aufweist, nach einjähriger Lagerung bei Raumtemperatur vorzugsweise um nicht mehr als 5% und besonders bevorzugt nicht mehr als 4% verringert ist. Nach einjähriger Lagerung bei 5°C ist der Anteil an
10 · Wirksubstanz vorzugsweise um nicht mehr als 3% und besonders bevorzugt um nicht mehr als 2,5% verringert.

Ein weiterer Gegenstand der vorliegenden Erfindung ist eine erfindungsgemäße Zusammensetzung in Form eines pharmazeutischen
15 Präparats. In diesem Fall ist die Zusammensetzung frei von Bestandteilen, die pharmazeutisch nicht akzeptabel sind und bevorzugt frei von Bestandteilen, welche beispielweise Irritationen hervorrufen. Das pharmazeutische Präparat kann neben den bereits genannten Trägersubstanzen weitere Hilfs- oder/und Zusatzstoffe enthalten, die
20 akzeptabel und bevorzugt gut verträglich sind.

Das pharmazeutische Präparat kann in einer Form vorliegen, die für eine systemische Verabreichung geeignet ist, wie beispielsweise eine injizierbare Flüssigkeit. Für dermatologische und gynäkologische Anwendungen liegt
25 das Präparat jedoch bevorzugt in einer Form vor, die für eine topische Applikation geeignet ist. Das Präparat weist für die jeweils gewünschte Applikationsform günstige Eigenschaften, z.B. Viskosität und Rheologie auf, um zu gewährleisten, daß nach der Applikation ein ausreichendes Eindringen der mit 5-Aminolävulinsäure beladenen Nanosomen in das Zielgewebe erfolgt. Diese Viskositäts- und Rheologieeigenschaften können durch
30 Zugabe von Verdickungsmitteln wie beispielsweise Polyethylenglykol-

- 9 -

stearylethern, Polyethylenglykolstearaten oder/und Polysacchariden wie etwa Polysaccharid B-1459, eingestellt werden.

Ein weiterer Gegenstand der vorliegenden Erfindung ist ein Verfahren zur 5 Herstellung der erfindungsgemäßen Zusammensetzung bzw. des pharmazeutischen Präparats. Dabei werden die Bestandteile des Trägermaterials in einer wässrigen Phase vorgelegt und das Gemisch durch intensive Homogenisierung in eine Nanoemulsion überführt. Hierzu können beispielsweise kommerziell erhältliche Hochdruck-Homogenisatoren 10 eingesetzt werden. Die 5-Aminolävulinsäure und gegebenenfalls vorhandene Zusatzstoffe können vor oder/und nach der Homogenisierung zugegeben werden. Nach Herstellung der Nanoemulsion können weitere Hilfs- und Zusatzstoffe, deren Gegenwart bei der Homogenisierung nicht erwünscht war, zugegeben werden.

15

Bevorzugt wird das Verfahren unter Luftausschluß durchgeführt, beispielsweise mittels Anlegen eines Vakuums oder/und einer Schutzgasatmosphäre. Außerdem ist es bevorzugt, unter Lichtausschluß zu arbeiten. Das Verfahren wird bei einer Temperatur durchgeführt, bei der die 20 Ausbildung der gewünschten Nanoemulsion stattfinden kann und eine ausreichende Stabilität der Bestandteile, insbesondere der Wirksubstanz gegeben ist. Im allgemeinen hat sich ein Temperaturbereich von etwa 5 bis 45°C als geeignet herausgestellt. Die Verarbeitung von Hilfs- oder/und Zusatzstoffen, die beispielsweise zunächst in einem separaten Ansatz 25 vermischt und gegebenenfalls homogenisiert werden, und erst danach zu der Zusammensetzung zugegeben werden, kann jedoch auch bei höheren Temperaturen, beispielsweise bis etwa 80°C erfolgen. Für eine pharmazeutische Anwendung wird für eine Sterilität des entstehenden Produkts gesorgt, z.B. durch Einsatz steriler Ausgangsmaterialien und 30 Einhaltung steriler Verfahrensbedingungen oder/und durch einen Sterilisationsschritt nach der Herstellung.

- 10 -

Ein wesentliches Verwendungsgebiet für die erfindungsgemäßen Zusammensetzungen liegt auf dem Gebiet der photodynamischen Therapie, wobei die Nanoemulsion besonders bevorzugt topisch appliziert wird. Der Einsatz der erfindungsgemäßen Nanoemulsion ist möglich bei sämtlichen 5 Erkrankungen, deren Bekämpfung eine Proliferationshemmung oder eine Abtötung von Zellen oder Gewebe mittel Photoaktivierung eines aus 5- Aminolävulinsäure gebildeten Sensibilisators umfaßt. Hierzu zählen insbesondere Erkrankungen, die mit einer gesteigerten Zellproliferation assoziiert sind, da in diesem Fall eine besonders hohe Anreicherung des 10 Photosensibilisators durch den gesteigerten Zellmetabolismus in erkrankten Zellen stattfindet.

Die erfindungsgemäßen Zusammensetzungen sind demnach geeignet zur Behandlung von Tumorerkrankungen, wie beispielsweise Basalzellkarzinome, 15 Plattenepithelkarzinome, Morbus Bowen, aktinische Keratose, Condylomata acuminata (CIN), epitheliale Neoplasie der Vulva (VIN), knotenartige und subkutane Krebserkrankungen. Ein Beispiel für eine nichttumorartige Erkrankung ist etwa Psoriasis.

20 Die Behandlung erfolgt z.B. durch topische Applikation einer die Wirksubstanz, z.B. 5-Aminolävulinsäure enthaltenden Nanoemulsion und anschließende Inkubation, um das Eindringen einer ausreichenden Menge der 5-Aminolävulinsäure in das zu behandelnde Gewebe zu gestatten. Während der Inkubation wird eine Lichteinstrahlung auf die behandelte 25 Stelle bevorzugt z.B. durch Abdecken vermieden, um eine unerwünschte vorzeitige Aktivierung zu verhindern. Nach Ablauf des Inkubationszeitraumes, der im Allgemeinen etwa 1 bis 8 h, und üblicherweise etwa 4 h beträgt, wird das Gewebe mit einer Lichtquelle in einer ausreichenden Strahlungsdosis bestrahlt. Geeignete Lichtquellen 30 umfassen Lampen, welche weißes Licht abgeben, sowie monochromatische Lichtquellen, wie etwa einen Laser, insbesondere Argon-Farbstofflaser mit einer Emission bei etwa 630 nm. Die Strahlungsdosen liegen üblicherweise

- 11 -

in einem Bereich von etwa 20 J/cm² bis mehrere 100 J/cm² pro Anwendung.

Ein weiteres Verwendungsgebiet für die erfindungsgemäßen 5 Nanoemulsionen betrifft den Nachweis des Vorhandenseins von proliferierenden Zellen in einer Probe, z.B. einer Gewebeprobe. Der Nachweis beruht auf einer selektiven Anreicherung eines durch Metabolisierung der Wirksubstanz erzeugten Photosensibilisators in den proliferierenden Zellen, verglichen mit normalen Zellen. Vorzugsweise ist die 10 Wirksubstanz 5-Aminolävulinsäure und der Photosensibilisator Protoporphyrin IX. Die Anreicherung des Photosensibilisators kann durch photodiagnostische Verfahren bestimmt werden, z.B. durch Bestrahlen mit Licht mit 405 nm Wellenlänge und Messen der durch den Photosensibilisator erzeugten Fluoreszenzstrahlung. Die erfindungsgemäßen 15 Nanoemulsionen sind insbesondere zur Verwendung in der Tumordiagnostik geeignet.

Ein weiterer Gegenstand der Erfindung ist die Verwendung der erfindungsgemäßen Nanoemulsion zur Herstellung eines Medikaments für 20 die photodynamische Therapie.

Schließlich betrifft die Erfindung einen Kit, welcher eine erfindungsgemäße, zur topischen Applikation geeignete Nanoemulsion sowie eines oder mehrere Hilfsmittel enthält. Solche Hilfsmittel sind beispielsweise ein 25 Abdeckmaterial, wie etwa eine Plastikfolie, das nach dem Aufbringen der Nanoemulsion auf die zu behandelnde Stelle aufgebracht wird, um eine vorzeitige Aktivierung durch Licht zu verhindern, Mittel zur Befestigung des Abdeckmaterials oder auch Mittel zum Auftragen der Nanoemulsion auf die zu behandelnde Stelle.

30

Die nachfolgenden Beispiele sollen die Erfindung weiterhin erläutern.

Beispiele**1. Herstellung einer 10% 5-Aminolävulinsäure-Lotion**

5

Es wurde ein Nanokolloidträgersystem gemäß dem Verfahren von US-Patent-Nr. 5,152,923 aus Eilecithin (83% Phosphatidylcholin), Miglyol 812 (Triglycerid) und Polysorbatum 80 in einem Phosphatpuffer hergestellt. Die Analysedaten des Trägersystems waren wie in Tabelle 1 angegeben.

10

Tabelle 1

Wässrige Phase	Phosphatpuffer 20 mM, pH 6,0
optische Eigenschaften	gelbe, stark schillernde Flüssigkeit
pH bei Raumtemperatur	6,0
Viskosität (20°C)	1,6 mPas
Größe der Nanopartikel	≤ 10-200 nm
mittlerer Durchmesser	19,4 nm
Eilecithin-Gehalt	17,5 mg/ml
Polysorbatum 80 Gehalt	≤ 3% (w/w)
Miglyol 812 Gehalt	34-38 mg/ml
Aerobe mesophile Keime in 50 ml	< 1 CFU/ml

15

Die zur Herstellung einer 5-ALA-Nanokolloid-Lotion verwendeten Komponenten und deren relative Anteile sind in Tabelle 2 angegeben.

20

25

- 13 -

Tabelle 2

	Bezeichnung	Menge (Gew.-%)
	Phase 1	
5	Cetylalkohol	5,00 %
	Stearylalkohol	1,00 %
	Glycerinmonostearat	2,00 %
	Vaselinfett SNOWWHITE	2,00 %
10	Paraffin pharm.perliquidum	2,00 %
	Isopropylmyristat kosm.	4,00 %
	Cremophor A 25	1,00 %
	Cremophor S9	1,50 %
	Cremophor EL 00647	1,88 %
	Phase 2	
15	Wasser	48,87 %
	Sorbitol 70 %	0,25 %
	Phenoxyethanol	0,50
	Phase 3	
20	Nanokolloid (Tabelle 1)	20,00 %
	5-Aminolävulinsäure-hydrochlorid	10,00 %

Sämtliche Verfahrensschritte wurden unter Ausschluß von Licht und Luftsauerstoff durchgeführt. Phase 1 wurde hergestellt durch Zusammenschmelzen der Komponenten gemäß Tabelle 2 in den angegebenen Mengenverhältnissen bei 80°C und anschließendem Mischen.

Phase 2 wurde in einem separaten Gefäß vorbereitet. Hierzu wurde das Wasser vorgelegt und die übrigen Komponenten gemäß Tabelle 2 unter Rühren zugegeben. Nach ausreichendem Mischen wurde Phase 2 auf 80°C erwärmt und unter Vakuum zu Phase 1 zugemischt.

- 14 -

Nach Abkühlen auf 75°C wurde das Gemisch 2 min lang in einem Homogenisator homogenisiert. Das entstandene Gemisch wurde auf 60°C abgekühlt und erneut 2 min lang homogenisiert.

5 Phase 3 wurde in einem separaten Gefäß unter Vakuum und Lichtausschluß hergestellt. Hierzu wurde das Nanokolloid-Trägersystem wie vorstehend beschrieben vorgelegt und das 5-Aminolävulinsäurehydrochlorid bei 25 bis 30°C darin gelöst. Anschließend wurde Phase 3 bei 40°C unter Vakuum zum Gemisch der Phasen 1 und 2 zugegeben. Die Zusammensetzung wurde 10 danach mit Schutzgas begast und 2 bis 3 min lang in einem Homogenisator homogenisiert. Anschließend wurde unter Rühren auf Raumtemperatur abkühlen gelassen.

15 Zur Bestimmung der Langzeitstabilität des Wirkstoffs wurde ein Teil der Lotion einem Lagerungstest unterzogen. Der 5-ALA-Gehalt betrug nach einjähriger Lagerung bei 5°C 97,92% des ursprünglichen Gehalts, bei Raumtemperatur wurde im selben Zeitraum ein Wert von 96,50% erhalten.

2. Herstellung eines 10% 5-Aminolävulinsäure-Gels

20 Es wurde ein Nanokolloidträgersystem gemäß dem Verfahren von US-Patent Nr. 5,152,923 aus Eilecithin und Miglyol 812 (Triglycerid) in einem K/Na-Phosphatpuffer hergestellt. Die Analysedaten waren wie in Tabelle 3 angegeben.

25

30

35

- 15 -

Tabelle 3

	wässrige Phase	Phosphatpuffer 20 mM, pH 6,0
	optische Eigenschaften	milchige Flüssigkeit
5	pH bei Raumtemperatur	6,0
	Viskosität bei 20 °C	1,5 mPas
	Größe der Nanopartikel	≤ 10-200 nm
	mittlerer Durchmesser	110,6 nm
	Standardabweichung	32,1 %
10	Gesamtlipid-Gehalt	105,4 mg/g
	Lecithin-Gehalt	27,0 mg/g
	Miglyol 812-Gehalt	78,4 mg/g
	aerobe mesophile Keime in 100 ml	< 1 CFU/ml

15 Die zur Herstellung eines 5-Aminolävulinsäure-Nanokolloid-Gels verwendeten Komponenten und deren relative Anteile sind in Tabelle 4 angegeben.

Tabelle 4

20	Bezeichnung	Menge (Gew.-%)
	Phase 1	
	Wasser	38,30 %
	Keltrol	1,70 %
	Phase 2	
25	Nanokolloid (Tabelle 3)	50,00 %
	Aminolävulinsäure-hydrochlorid	10,00 %

30 Zur Herstellung von Phase 1 wurde das Wasser vorgelegt, auf 60 bis 70°C erwärmt und anschließend Keltrol unter Vakuum darin dispergiert. Das Gemisch wurde 4 min bei Stufe 1 homogenisiert, danach unter Rühren auf Stufe 1 auf 30°C abkühlen gelassen.

Zur Herstellung von Phase 2 wurde das Nanoträgersystem in einem verschlossenen Gefäß unter Vakuum bei Raumtemperatur vorgelegt, und das 5-Aminolävulinsäurehydrochlorid wurde unter Rühren in 2 bis 3 h vollständig gelöst.

5

Danach wurde Phase 2 unter Vakuum zu Phase 1 gemischt und anschließend mit Stickstoff begast. Die entstandene Zusammensetzung wurde bei einer Temperatur von maximal 30°C 2 h unter Rühren homogen gemischt.

10

Zur Bestimmung der Langzeitstabilität des Wirkstoffs wurde ein Teil des Gels einem Lagerungstest unterzogen. Der 5-ALA-Gehalt betrug nach einjähriger Lagerung bei 5°C 99,17% des ursprünglichen Gehalts, bei Raumtemperatur wurde im gleichen Zeitraum ein Wert von 98,94% erhalten.

15

3. Photodynamische Therapie unter Verwendung der Nanokolloid-Lotion von Beispiel 1

20 Die Wirkung der erfindungsgemäßen Nanolotion wurde in einer klinischen Studie an 55 Basalzellkarzinomen in einem Patientenkollektiv von 19 Personen untersucht.

25 Vor Auftragen der Nanokolloidlotion wurde die gesamte zu behandelnde Hautfläche mit einer alkoholischen Lösung gereinigt. Es wurden jeweils 0,15 g Nanokolloidlösung pro cm² der zu behandelnden Hautfläche aufgebracht, was zu einem dünnen, sichtbaren Lotionsfilm führte. Nach dem Auftragen wurde die gesamte Fläche mit einem lichtundurchsichtigen Abdeckmaterial abgedeckt, um ein Verschmieren der Lotion und durch 30 Raumlicht hervorgerufene unerwünschte photodynamische Reaktionen zu verhindern. Nach einer Einwirkzeit von 6 h wurde die Abdeckung entfernt, und die Gegenwart von Protoporphyrin IX sowie das Ausmaß des Tumors

wurden bewertet anhand der charakteristisch roten Fluoreszenz von Porphyrinen bei Bestrahlung mit ultraviolettem Licht.

Die Bestrahlung wurde durchgeführt mit unfiltriertem Licht aus einer 250 W Halogenlampe mit einer Spektralverteilung über den gesamten sichtbaren Bereich bei einem Maximum von etwa 800 nm. Alle Läsionen wurden in einem Abstand von 10 cm bestrahlt, was die Bestrahlung von Bereichen mit einem Durchmesser bis zu 10 cm erlaubte. Die Bestrahlungsdauer betrug 20 min bei einer Intensität von 200 mW/cm², entsprechend einer Gesamtlichtdosis von 240 J/cm².

Das Patientenkollektiv umfaßte 19 Personen, die ein oder mehrere oberflächliche Basalzellkarzinome ohne Metastasen hatten. Insgesamt wurden 55 Basalzellkarzinome mittels photodynamischer Therapie behandelt. Keiner der in diese Studie aufgenommenen Patienten war zuvor mit entweder einer konventionellen Methode oder photodynamischen Therapie behandelt worden. Das Alter der Patienten betrug 32 bis 93 Jahre, mit einem Durchschnittsalter von 65 Jahren. 14 (73,7%) Patienten waren männlich und 5 (25,3%) weiblich. Mit einer Ausnahme waren die in dieser Studie behandelten Hauttumoren oberflächliche Läsionen. Der mittlere Durchmesser der Läsionen betrug 13,2 mm, mit einer Größenvariation zwischen 4,0 und 45 mm. Die Zahl der behandelten Tumoren in unterschiedlichen Körperbereichen waren 11 (20%) im Kopf und Nackenbereich, 37 (67%) im Rumpfbereich, 3 (5%) auf den oberen Gliedmaßen und 4 (7%) auf den unteren Gliedmaßen. Vor Aufnahme der Behandlung wurden routinemäßig Biopsien entnommen um die Diagnose zu bestätigen. Der Therapieerfolg wurde bewertet durch visuelle Inspektion und Palpation und bei 26 (47%) der Tumoren auch durch histopathologische Untersuchungen. Die in Abwesenheit eines klinisch feststellbaren Tumors an der Behandlungsstelle bei der Nachuntersuchung wurde als Tumorvollresponse definiert. Eine merkliche Verringerung der Tumogröße wurde als Tumorteilresponse definiert.

- 18 -

Die in dieser Studie erreichten Ansprechraten sind in Tabelle 5 zusammengefaßt. Es wurde festgestellt, daß 47 (85%) der 55 in 19 Patienten behandelten Basalzellkarzinome nach einer einzigen Behandlung vollständig zurückgingen, wie durch Nachuntersuchung nach mindestens 6 Monaten nach der Behandlung klinisch festgestellt. Für die restlichen 8 (15%) Basalkarzinome wurde ein Teilrückgang, d.h. eine merkliche Verringerung der Tumorgröße, festgestellt.

Tabelle 6 zeigt die Resultate der photodynamischen Therapie in Abhängigkeit von der Lokalisierung der Basalzellkarzinome. Die besten Resultate wurden für die sieben Läsionen auf den Gliedmaßen erhalten, die vollständig zurückgingen. Von 37 Rumpfläsionen gingen 32 Tumoren vollständig zurück und von 11 Tumoren im Kopf- und Nackenbereich gingen 8 (76%) vollständig zurück.

15

Tabelle 5

	visuelle Beurteilung	Biopsie
Zahl der Patienten	19	13
Basalzellkarzinome	55	26
vollständig. Rückgang	47 (85%)	21 (81%)
Teilrückgang	8 (15%)	5 (19%)
keine Reaktion	-	-

25

Tabelle 6

	Kopf und Nacken	Rumpf	Gliedmaßen
Zahl der Patienten	6	12	4
Basalzellkarzinome	11	37	7
vollständ. Rückgang	8 (73%)	32 (86%)	7 (100%)
Teilrückgang	3 (27%)	5 (14%)	-
keine Reaktion	-	-	-

**4. Photodynamische Therapie unter Verwendung des Nanokolloid-Gels
gemäß Beispiel 2**

5 Die Wirkung des erfindungsgemäßen Nanoemulsion in Form eines Gels wurde in einer klinischen Studie zur photodynamischen Therapie von Kondylomata acuminata und intraepithelialer Neoplasie der Vulva (VIN) an 47 Läsionen eine Patientenkollektivs von 16 Personen mit einem Alter von 18 bis 45 Jahren (Durchschnitssalter 32,7 Jahre) untersucht.

10

Das Auftragen des Gels erfolgte wie in Beispiel 3 für die Lotion beschrieben, mit der Ausnahme, daß die Inkubationszeit zur Diffusion der 5-Aminolävulinsäure lediglich 90 min betrug. Bestrahlung erfolgte unter Verwendung eines Argon-Farbstofflasers (Coherent Innovia, Modell 310, Palo Alto, CA) mit monochromatischem Licht (630 nm) und mit Lichtdosen zwischen 50 J/cm² und 125 J/cm².

20 Nach einer einzigen Behandlung zeigten während einer Nachuntersuchungszeit zwischen 1 bis 12 Monaten neun der sechzehn Patienten einen vollständigen Rückgang und die anderen sieben einen Teilrückgang. Die Behandlung wurde vom Großteil des Patientenkollektivs gut vertragen. Den Patienten stand offen, die Bestrahlung zu unterbrechen, wenn der Schmerz übermäßig wurde. Die Anzahl der Unterbrechungen bis zum Erreichen der kompletten Strahlungsdauer wurde festgehalten. Lediglich drei der Patienten 25 hatten die Bestrahlung öfter als fünfmal unterbrochen, fünf Patienten unterbrachen die Bestrahlung ein oder zweimal und die restlichen benötigten keine Unterbrechung.

30

- 20 -

Ansprüche

1. Zusammensetzung,
5 dadurch gekennzeichnet,
daß sie eine Nanoemulsion, eine Wirksubstanz ausgewählt aus 5-Aminolävulinsäure, einem Derivat, einer Vorstufe oder/und einem Metaboliten davon und einen Träger in einer wässrigen Phase, enthält.
10
2. Zusammensetzung nach Anspruch 1,
dadurch gekennzeichnet,
daß die mittlere Größe der emulgierten Teilchen \leq 10 bis 200 nm beträgt.
15
3. Zusammensetzung nach Anspruch 1 oder 2,
dadurch gekennzeichnet,
daß der Träger aus einem oder mehreren Lipiden und aus einem oder mehreren Emulgatoren gebildet ist.
20
4. Zusammensetzung nach Anspruch 2,
dadurch gekennzeichnet,
daß der Emulgator ein oder mehrere Glycerophosphatide in einem Gewichtsverhältnis Lipid:Emulgator von 0,05 bis 0,4:1 umfaßt.
25
5. Zusammensetzung nach einem vorhergehenden Ansprüche,
dadurch gekennzeichnet,
daß die Wirksubstanz in einem Anteil von 1 bis 25 Gew.-%, insbesondere von 5 bis 15 Gew.-%, bezogen auf das Gesamtgewicht der Zusammensetzung vorhanden ist.
30

- 21 -

6. Zusammensetzung nach einem der vorhergehenden Ansprüche,
dadurch gekennzeichnet,
daß sie weiterhin Hilfs- oder/und Zusatzstoffe umfaßt, die in der
Kosmetik oder Pharmazie üblich sind.
- 5
7. Zusammensetzung nach Anspruch 6,
dadurch gekennzeichnet,
daß sie in Form eines Gels vorliegt und, bezogen auf das
Gesamtgewicht der Zusammensetzung, 5 bis 15% Wirksubstanz, 45
10 bis 55% Träger, 1 bis 5% Hilfsstoffe und den Rest Wasser umfaßt.
8. Zusammensetzung nach Anspruch 6,
dadurch gekennzeichnet,
daß sie in Form einer Lotion vorliegt und, bezogen auf das
15 Gesamtgewicht der Zusammensetzung, 5 bis 15% Wirksubstanz, 15
bis 25% Träger, 15 bis 25% Hilfsstoffe und den Rest Wasser
umfaßt.
9. Zusammensetzung nach einem der vorhergehenden Ansprüche,
20 dadurch gekennzeichnet,
daß der Gehalt an Wirksubstanz nach einjähriger Lagerung bei
Raumtemperatur von nicht mehr als 5% verringert ist.
10. Zusammensetzung nach einem der vorhergehenden Ansprüche,
25 dadurch gekennzeichnet,
daß sie in Form einer pharmazeutischen Präparats ist.
11. Zusammensetzung nach Anspruch 10,
dadurch gekennzeichnet,
30 daß sie topisch applizierbar ist.

- 22 -

12. Verfahren zur Herstellung einer Zusammensetzung nach einem der vorhergehenden Ansprüche,
dadurch gekennzeichnet,
daß man ein Gemisch, umfassend einen Träger und eine wässrige
5 Phase herstellt und in eine Nanoemulsion überführt, wobei vor oder/und nach der Überführung in die Nanoemulsion die Wirksubstanz zugegeben wird, und man danach gegebenenfalls Hilfs- oder/und Zusatzstoffe beimischt.
- 10 13. Verfahren nach Anspruch 12,
dadurch gekennzeichnet,
daß man unter Sauerstoff- oder/und Lichtausschluß arbeitet.
- 15 14. Verfahren nach Anspruch 12 oder 13,
dadurch gekennzeichnet,
daß man bei einer Temperatur von 5 bis 45°C arbeitet.
- 20 15. Verwendung einer Wirksubstanz ausgewählt aus 5-Aminolävulinsäure, einem Derivat, einer Vorstufe oder einem Metaboliten davon enthaltenden Nanoemulsion bei einer photodynamischen Therapie.
- 25 16. Verwendung nach Anspruch 15,
dadurch gekennzeichnet,
daß die Nanoemulsion topisch appliziert wird.
- 30 17. Verwendung nach Anspruch 15 oder 16 bei der Therapie von mit Zellproliferation assoziierten Erkrankungen.
18. Verwendung nach Anspruch 17 bei der Therapie von Tumorerkrankungen.

- 23 -

19. Verwendung nach Anspruch 18,
dadurch gekennzeichnet,
daß die Erkrankung ein Basalzellkarzinom, ein Plattenepithelkarzinom,
Morbus Bowen, aktinische Keratose, Condylomata acuminata (CIN),
5 intraepitheliale Neoplasie der Vulva (VIN) oder eine knotenartige oder
subkutane Krebserkrankung ist.
- 10 20. Verwendung nach Anspruch 17,
dadurch gekennzeichnet,
daß die Erkrankung Psoriasis ist.
- 15 21. Verwendung einer Nanoemulsion, die eine Wirksubstanz ausgewählt
aus 5-Aminolävulinsäure, einem Derivat, einer Vorstufe oder/und
einem Metaboliten davon enthält, zur Herstellung eines Medikaments
für die photodynamische Therapie.
- 20 22. Verfahren zur photodynamischen Therapie,
dadurch gekennzeichnet,
daß man eine Wirksubstanz ausgewählt aus 5-Aminolävulinsäure,
einem Derivat, einer Vorstufe oder/und einem Metaboliten davon
enthaltende Nanoemulsion einem erkrankten Lebewesen in einer
wirksamen Menge verabreicht, für einen Zeitraum inkubiert, der
geeignet ist um für eine ausreichende Menge der Wirksubstanz in
dem zu behandelnden Gewebe zu sorgen und das Gewebe mit Licht
25 bestrahlt.
- 30 23. Verwendung einer Nanoemulsion, die eine Wirksubstanz ausgewählt
aus 5-Aminolävulinsäure, einem Derivat, einer Vorstufe oder/und
einem Metaboliten davon enthält, zum Nachweis von proliferierenden
Zellen.

- 24 -

24. Verwendung nach Anspruch 23 zur Diagnose von Tumorerkrankungen.

- 5 25. Kit, umfassend eine topisch applizierbare Zusammensetzung nach Anspruch 11 und mindestens eine Komponente, ausgewählt aus
 - (a) einem im wesentlichen lichtundurchlässigen blattartigen Material,
 - (b) Mittel zur Befestigung des blattartigen Materials auf einem Applikationsort, und
 - 10 (c) Mittel zum Auftragen der Zusammensetzung auf einem Applikationsort.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Int'l. Jpn. Application No.
PCT/EP 99/08711

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
 IPC 7 A61K9/107 A61K31/197 A61K41/00 A61P35/00 A61P17/06

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	<p>HÜRLIMANN AF, ET AL.: "Photodynamic therapy of superficial basal cell carcinomas using topical 5-aminolevulinic acid in a nanocolloid lotion" DERMATOLOGY, vol. 197, no. 3, 1998, pages 248-254, XP000884929 ISSN 1018-8665 page 249, left-hand column, line 11 -page 250, left-hand column, line 15 table 2</p> <p>---</p> <p>EP 0 274 431 A (MEDAPHORE INC) 13 July 1988 (1988-07-13) page 16, line 58 -page 17, line 2 page 38, line 31 -page 39, line 16 claims 1,2,4,16,24-26; examples 129,133,135,140</p> <p>---</p> <p>---</p>	1,5, 9-11, 15-19, 21-23,25
X		1,5,6, 9-14
		-/-

Further documents are listed in the continuation of box C.

Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents :

- "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- "E" earlier document but published on or after the international filing date
- "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

- "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

"Z" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

Date of mailing of the international search report

23 March 2000

29/03/2000

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patenttaan 2
 NL - 2280 HV Rijswijk
 Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl.
 Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Epskamp, S

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Int'l. Search Application No.
PCT/EP 99/08711

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	EP 0 704 209 A (JOHNSON & JOHNSON MEDICAL) 3 April 1996 (1996-04-03) claims; examples ---	1-25
A	US 5 152 923 A (WEDER HANS G ET AL) 6 October 1992 (1992-10-06) cited in the application column 1, line 61 -column 4, line 15 claims; examples ---	1-14

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/EP99/08711

Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. Claims Nos.: because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

Observation: Although claims 15-20 and 22 relate to a method for the treatment of the human or animal body, the search was carried out and was based on the cited effects of the compound/composition.
2. Claims Nos.: because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. Claims Nos.: because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
 No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/EP99/08711

ADDITIONAL MATTER**PCT/ISA/210****Continuation of Box I.1**

Although claims 15-20 and 22 relate to a method for treatment of the human or animal body and although claim 23 relates to a diagnostic method that is conducted on the human or animal body, the search was carried out and was based on the cited effects of the composition.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

Int'l	Int'l Application No
	PCT/EP 99/08711

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)		Publication date
EP 0274431	A 13-07-1988	US 4794000 A		27-12-1988
		US 4914084 A		03-04-1990
		US 4963367 A		16-10-1990
		AT 105183 T		15-05-1994
		CA 1321542 A		24-08-1993
		DE 3889346 D		09-06-1994
		JP 63239213 A		05-10-1990
EP 0704209	A 03-04-1996	AU 3176695 A		04-04-1996
		BR 9504090 A		24-09-1996
		CA 2158724 A		21-03-1996
		JP 8175986 A		09-07-1996
US 5152923	A 06-10-1992	CH 677886 A		15-07-1991
		AT 94056 T		15-09-1993
		CA 2019710 A		26-12-1990
		DE 59002618 D		14-10-1993
		EP 0406162 A		02-01-1991
		JP 3047527 A		28-02-1991

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen
PCT/EP 99/08711

A. KLASIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES
IPK 7 A61K9/107 A61K31/197 A61K41/00 A61P35/00 A61P17/06

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierte Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)

IPK 7 A61K

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	HÜRLIMANN AF, ET AL.: "Photodynamic therapy of superficial basal cell carcinomas using topical 5-aminolevulinic acid in a nanocolloid lotion" DERMATOLOGY, Bd. 197, Nr. 3, 1998, Seiten 248-254, XP000884929 ISSN 1018-8665 Seite 249, linke Spalte, Zeile 11 -Seite 250, linke Spalte, Zeile 15 Tabelle 2 ----	1,5, 9-11, 15-19, 21-23,25
X	EP 0 274 431 A (MEDAPHORE INC) 13. Juli 1988 (1988-07-13) Seite 16, Zeile 58 -Seite 17, Zeile 2 Seite 38, Zeile 31 -Seite 39, Zeile 16 Ansprüche 1,2,4,16,24-26; Beispiele 129,133,135,140 ----	1,5,6, 9-14
		-/-

Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen

Siehe Anhang Patentfamilie

- * Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :
- *A* Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist
- *E* älteres Dokument, das jedoch erst oder nach dem Internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist
- *L* Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)
- *O* Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht
- *P* Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

- *T* Spätere Veröffentlichung, die nach dem Internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist
- *X* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erforderlicher Tätigkeit beruhend betrachtet werden
- *Y* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erforderlicher Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist
- *A* Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der Internationalen Recherche	Absendedatum des Internationalen Recherchenberichts
23. März 2000	29/03/2000
Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl Fax: (+31-70) 340-3016	Bevollmächtigter Bediensteter Epskamp, S

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Int. nationales Aktenzeichen

PCT/EP 99/08711

C.(Fortssetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN		
Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	EP 0 704 209 A (JOHNSON & JOHNSON MEDICAL) 3. April 1996 (1996-04-03) Ansprüche; Beispiele -----	1-25
A	US 5 152 923 A (WEDER HANS G ET AL) 6. Oktober 1992 (1992-10-06) in der Anmeldung erwähnt Spalte 1, Zeile 61 -Spalte 4, Zeile 15 Ansprüche; Beispiele -----	1-14 >

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

internationales Aktenzeichen

PCT/EP 99/08711

Feld I Bemerkungen zu den Ansprüchen, die sich als nicht recherchierbar erwiesen haben (Fortsetzung von Punkt 2 auf Blatt 1)

Gemäß Artikel 17(2a) wurde aus folgenden Gründen für bestimmte Ansprüche kein Recherchenbericht erstellt:

1. Ansprüche Nr.

weil sie sich auf Gegenstände beziehen, zu deren Recherche die Behörde nicht verpflichtet ist, nämlich

Bemerkung: Obwohl die Ansprüche 15-20 und 22 sich auf ein Verfahren zur Behandlung des menschlichen/tierischen Körpers beziehen, wurde die Recherche durchgeführt und gründete sich auf die angeführten Wirkungen der Verbindung/Zusammensetzung.

2. Ansprüche Nr.

weil sie sich auf Teile der internationalen Anmeldung beziehen, die den vorgeschriebenen Anforderungen so wenig entsprechen, daß eine sinnvolle internationale Recherche nicht durchgeführt werden kann, nämlich

3. Ansprüche Nr.

weil es sich dabei um abhängige Ansprüche handelt, die nicht entsprechend Satz 2 und 3 der Regel 6.4 a) abgefaßt sind.

Feld II Bemerkungen bei mangelnder Einheitlichkeit der Erfindung (Fortsetzung von Punkt 3 auf Blatt 1)

Die internationale Recherchenbehörde hat festgestellt, daß diese internationale Anmeldung mehrere Erfindungen enthält:

1. Da der Anmelder alle erforderlichen zusätzlichen Recherchengebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich dieser internationale Recherchenbericht auf alle recherchierbaren Ansprüche.

2. Da für alle recherchierbaren Ansprüche die Recherche ohne einen Arbeitsaufwand durchgeführt werden konnte, der eine zusätzliche Recherchengebühr gerechtfertigt hätte, hat die Behörde nicht zur Zahlung einer solchen Gebühr aufgefordert.

3. Da der Anmelder nur einige der erforderlichen zusätzlichen Recherchengebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich dieser internationale Recherchenbericht nur auf die Ansprüche, für die Gebühren entrichtet worden sind, nämlich auf die Ansprüche Nr.

4. Der Anmelder hat die erforderlichen zusätzlichen Recherchengebühren nicht rechtzeitig entrichtet. Der internationale Recherchenbericht beschränkt sich daher auf die in den Ansprüchen zuerst erwähnte Erfindung; diese ist in folgenden Ansprüchen erfaßt:

Bemerkungen hinsichtlich eines Widerspruchs

Die zusätzlichen Gebühren wurden vom Anmelder unter Widerspruch gezahlt.

Die Zahlung zusätzlicher Recherchengebühren erfolgte ohne Widerspruch.

WEITERE ANGABEN	PCT/ISA/ 210
<p>Fortsetzung von Feld I.1</p> <p>Obwohl die Ansprüche 15-20 und 22 sich auf ein Verfahren zur Behandlung des menschlichen/tierischen Körpers beziehen, und obwohl der Anspruch 23 sich auf ein Diagnostizierverfahren, das am menschlichen/tierischen Körper vorgenommen wird, bezieht, wurde die Recherche durchgeführt und gründete sich auf die angeführten Wirkungen der Zusammensetzung.</p>	

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Int. nationales Aktenzeichen

PCT/EP 99/08711

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie			Datum der Veröffentlichung
EP 0274431 A	13-07-1988	US	4794000 A		27-12-1988
		US	4914084 A		03-04-1990
		US	4963367 A		16-10-1990
		AT	105183 T		15-05-1994
		CA	1321542 A		24-08-1993
		DE	3889346 D		09-06-1994
		JP	63239213 A		05-10-1990
EP 0704209 A	03-04-1996	AU	3176695 A		04-04-1996
		BR	9504090 A		24-09-1996
		CA	2158724 A		21-03-1996
		JP	8175986 A		09-07-1996
US 5152923 A	06-10-1992	CH	677886 A		15-07-1991
		AT	94056 T		15-09-1993
		CA	2019710 A		26-12-1990
		DE	59002618 D		14-10-1993
		EP	0406162 A		02-01-1991
		JP	3047527 A		28-02-1991